

Über die Bildung Komplementbindender
Antikörper gegen Ornithosevirus
bei experimentell infizierten Mäusen

von

Lore Knetsch

~~1964~~

1965



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551901_0074

Aus dem Institut für Zoonosenforschung
an der Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt am Main
Direktor: Professor Dr. G. Schoop

ÜBER DIE BILDUNG KOMPLEMENTBINDENDER ANTIKÖRPER
GEGEN ORNITHOSEVIRUS BEI EXPERIMENTELL INFIZIERTEN MÄUSEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der hohen medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt
von
Lore Knetsch
aus Mittenwald in Schlesien

Frankfurt/Main 1964

Dekan: Prof. Dr. H. Frick

Referent: Prof. Dr. G. Schoop

Korreferent: Privatdozent Dr. med. G. May

Mündliche Prüfung: 8. und 9. Januar 1965

Inhaltsübersicht

	Seite
A. Einleitung	5
B. Literaturbesprechung	7
I. Die Auswirkungen einer experimentellen Infektion mit Viren der Psittakose-Lymphogranulomatoseggruppe auf die Maus	7
1. Nachweis des Ornithosevirus in der Maus	7
2. Der Infektionsmodus	8
3. Möglichkeiten einer Differenzierung durch die Infektionsmodi	10
II. Vergleichende Betrachtung von Eikultur und Maus in der Virusanzüchtung	11
III. Die experimentell infizierte Maus	13
1. Das klinische Bild	13
2. Das Verhalten des Ornithosevirus in der Maus bei der intraabdominalen Verabfolgung	14
a. Die Methoden des Virusnachweises	14
b. Der Zeitpunkt des Virusnachweises	15
c. Die Verteilung des Virus in den Organen	16
3. Die pathologischen Organbefunde	17
4. Die Beurteilung des Milztumors in der Diagnostik	20
IV. Das Ausreten von Antikörpern im Verlaufe der experimentellen Infektion mit Viren der Psittakosegruppe	21
1. Präzipitierende und agglutinierende Antikörper	21
2. Neutralisierende Antikörper	21
3. Komplementbindende Antikörper	23
C. Eigene versuche	27
I. Material und methode	27
1. virusstämme und Versuchstiere	27
2. Tierversuche	28
3. Serologische Untersuchung	30
II. Versuchsfolge	34
1. Anzüchtung der eiadaptierten Stämme in der Maus	34

	Seite
a. Stamm 1251	34
b. Stamm CH-17	35
c. Serologische Untersuchung	35
d. Ergebnisse der Anzüchtung	36
e. Virustitration	37
2. Infektionsversuche	38
a. Stamm 1251	38
b. Stamm CH-17	40
3. Seren nichtinfizierter Kontrollmäuse	42
4. Auswertung diagnostischer Versuche des Instituts	43
D. Besprechung der Ergebnisse	46
I. Eigene Ergebnisse	46
II. Institutsergebnisse	49
III. Betrachtung der Gesamtergebnisse	50
E. Schlußfolgerungen	53
F. Literaturverzeichnis	54

A. Einleitung.

Der Erreger der Psittakose bzw. der Ornithose wird mit Viren, die morphologisch und serologisch ähnlich sind, zusammengefasst zur Psittakose-Lymphogranulomagruppe. Die Gruppe dieser relativ großen Viren verursacht außer Psittakose und Lymphogranuloma inguinale, Pneumonie bei Schaf, Hund, Katze, Maus und anderen Tieren. Außerdem gehören dazu die Viren der Rinderenzephalomyelitis, der Meningopneumonitis des Rindes, das Schafabort- und das Rinderabortvirus und vielleicht noch einige andere. Diese Erreger bilden Elementarkörperchen, die schon lichtmikroskopisch sichtbar sind. Gemeinsam ist ihnen ein hitzestabiles Antigen, das in der Komplementbindungsreaktion demonstrierbar ist. Wegen des Gruppencharakters dieses Antigens kann die serologische Diagnose einer Krankheit nur in Verbindung mit klinischen, pathologisch-anatomischen und mikroskopischen Befunden gestellt werden. Als Versuchstier dient die weiße Maus.

Die Bezeichnung Psittakose für eine Erkrankung der Papageienvögel (Psittaciden), die auf Menschen übertragbar ist, erwies sich als unzureichend, nachdem man das Virus bei vielen Vogelarten nachweisen konnte. (K.F. Meyer). Heute ist eine Unklarheit in die Nomenklatur gekommen. Teils wird nur von Ornithose gesprochen, teils will man die Bezeichnung Psittakose für die Erkrankung der Papageienvögel beibehalten. Lippelt und Brand (1955) reden von Standortvarianten des gleichen Erregers. Sie erklären verschiedene Stammesunterschiede des Virus als Adaptation an den Wirtsorganismus. Weyer (1955) empfahl, in Anlehnung an K.F. Meyer (1955) die Ornithose durch die Angabe der Quelle z.B. Taube noch besser zu definieren. Die Erkrankung des Menschen soll

einheitlich als Psittakose bezeichnet werden, auch wenn die Infektionsquelle kein Papageienvogel war.

In der Diagnose der Psittakose beim Vogel und beim Menschen spielt für den Virusnachweis neben der Eikultur der Tierversuch eine wichtige Rolle.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine serologische Reaktion im Rahmen der Tierversuche geprüft. Es wurde nachzuweisen versucht, zu welchem Zeitpunkt und in welcher Menge komplementbindende Antikörper im Blut ornithoseinfizierter Mäuse auftreten und inwieweit hieraus diagnostisch verwertbare Ergebnisse zu erzielen sind.

B. Literaturbesprechung.

I. Die Auswirkungen einer experimentellen Infektion mit Viren der Psittakose-Lymphogranulomgruppe auf die Maus.

1. Nachweis des Ornithosevirus in der weißen Maus

Im Jahre 1930 beschrieben K r u m w i e d e, M a c G r a t h und O l d e n b u s c h erstmalig Versuche, bei denen die Infektion der weißen Labormaus mit dem Psittakosevirus gelang. Im Zusammenhang mit ungeklärten menschlichen Erkrankungen wurden die Organe eines gestorbenen Papageien zu einer Suspension verarbeitet und durch ein Berkefeld-Filter filtriert. Ein Papagei wurde damit infiziert und starb. Mehrere Passagen mit wiederholt filtriertem Material ergaben den gleichen Befund. Die Filtrierbarkeit des Erregers war so bewiesen. Dasselbe Virus tötete Mäuse bei intraabdominaler Verabfolgung. Die Pathogenität war jedoch nicht sehr hoch. In einer zweiten Arbeit führte K r u m w i e d e (1930) diese Versuche weiter. Organmaterial von menschlichen Fällen erzeugte in Papageien eine Infektion. Die Übertragung des Erregers vom Papagei auf die Maus war erfolgreich. Die Pathogenität änderte sich über mehrere Mäusepassagen nicht. Die Reinfizierung eines Papageien gelang, der Vogel starb. Ebenfalls konnte das Virus nun wieder vom Papagei auf die Maus übertragen werden.

Die Empfänglichkeit der weißen Maus für das Psittakosevirus wurde von B e d s o n und W e s t e r n (1930) bestätigt. Sie infizierten Mäuse intraabdomi-

nal mit citriertem Blut menschlicher Psittakosefälle. Dabei gelang ihnen die Isolierung eines Virusstammes. Die Mäuse erkrankten am 15. Tag post infectionem. R i v e r s und B e r r y konnten diese Versuche untermauern (1931, 1932). Sie wiesen Virus (minute bodies) im Tupfpräparat von Leber und Milz nach; die Tiere waren intra-abdominal mit infektiösem menschlichem Sputum infiziert worden. R i v e r s und B e r r y (1932) stellten sechs Kriterien auf, die die Diagnose einer Ornithose-Infektion aussprechen lassen. Von diesen seien hier drei erwähnt:

1. Die infizierten Tiere müssen an einer Infektion, die nach 10 - 14 Tagen gelegentlich erst nach 30 Tagen, letal ist, erkranken.
2. Im Tupfpräparat von Leber und Milz müssen "minute bodies" gefunden werden.
3. Der Erreger soll über Serienpassagen mit filtrierten Leber- und Milzemulsionen weiterzüchtbar sein.

2. Der Infektionsmodus

In der Hauptsache werden drei Wege benutzt, um das Virus in der Maus anzuzüchten.

Die intraabdominale Methode wurde von M e y e r und E d d i e (1948) als die am häufigsten angewendete bezeichnet. Bei einer Infektionsmenge von 0,5 ml Organsuspension, die in das Abdomen injiziert wird, sterben die Tiere innerhalb von 3 - 30 Tagen. Die durchschnittliche Krankheitsdauer beträgt 8 - 10 Tage. Das Virus wird im Peritonealexsudat nachgewiesen.

Bei der intranasalen Infizierung werden 0,05 ml durch Einträufeln in die Nasenlöcher gegeben. Die Symptome: erschwerte Atmung, Kauerstellung und

Apathie treten sehr schnell auf. Todesfälle liegen zwischen dem 2. und 20. Tag post infectionem. Die obigen Autoren raten, diese Methode nur als zusätzliches Mittel zu **gebrauchen**, da das Virus in älteren Pulmonalherden **schlecht** nachweisbar ist. Bei der dritten Möglichkeit, die durch die intracerebrale Applikation gegeben ist, werden 0,03 ml der infektiösen Suspension in leichtem Ätherrausch injiziert. Die Mäuse sterben zwischen dem 3. und 5. Tag nach einem ein- bis zweitägigen Stadium der Somnolenz. Dabei werden Lähmungen beobachtet. Bei den letzteren Methoden wird Virus ebenfalls in Tupfpräparaten der betreffenden Organe nachgewiesen.

Ein Virulenzverlust im Verlaufe mehrerer Mäusepassagen stellten Meyer und Eddie (1958) bei der intraabdominalen Infizierung der Tiere fest. Einzelne intranasale Passagen führten zu Anfangsvirulenz zurück. Christensen (1957) bevorzugte die intracerebrale Methode. Er sah darin folgende Vorteile: Für das Laborpersonal geringere Ansteckungsgefahr als bei der intranasalen Methode, für die intraabdominale Infektion zeigten die Tiere sich zum Teil weniger empfänglich. Außerdem soll das Mäusegehirn eine bakterizide Kraft besitzen und zerstörend auf sekundäre bakterielle Infektionskeime wirken. Obwohl die Tupfpräparate des infizierten Mäusehirns oft virushaltiger sind, zog Hennebereg (1960) den intraabdominalen Infektionsmodus vor, da hier die Technik weniger umständlich ist. Dies ist für die laufende Laboratoriumsarbeit bedeutungsvoll. Dazu

kommt noch der diagnostische Wert der pathologischen Veränderungen im Abdomen, auf die später eingegangen wird.

3. Möglichkeiten einer Differenzierung der einzelnen Viren der Psittakose-Lymphogranulomagruppe, gegeben durch die Infektionsmodi.

Das Psittakosevirus besitzt für die parenchymatösen Organe und für Lunge und Gehirn eine besondere Affinität. Andere Viren der großen Gruppe zeigen einzelnen Organen gegenüber einen ausgeprägten Tropismus, sodaß der Infektionsmodus als Mittel zur Differenzierung benutzt werden kann.

So gab C o x (1947) an, daß das Psittakosevirus intraabdominal injiziert eine größere Virulenz für die Maus besitzt als das Ornithosevirus. Das Virus des Lymphogranuloma inguinale, das Mäusepneumonitisvirus und das Virus des SF-Stammes infizieren Mäuse intraabdominal nicht.

In einer Arbeit über das Bronchopneumonievirus wies G ö n n e r t (1942) nach, daß das Virus intranasal injiziert hochvirulent für die weiße Maus ist. Intraabdominal und intracerebral infizierte Tiere erkrankten nicht.

Aus anscheinend gesunden Mäuselungen isolierte C. N i g g (1942) zwei identische Virusstämme, die morphologisch den Viruspartikeln der Psittakosegruppe glichen. Dieses Mäusepneumonievirus zeigte pneumotrope und viscerotrope Eigenschaften. Bei der intranasalen Infizierung wurde Virus in Lunge und Milz, aber nicht im Gehirn nachgewiesen. Dagegen wurde es bei intracerebralen Methode ^{der} im Gehirn und in der Lunge gefunden.

H i l l e m a n (1945) prüfte zwei Mäusepneumoniestämme im Mäuseversuch und fand eine hohe Virulenz bei der intranasalen Verabfolgung, beim intracerebralen und intraabdominalen Weg kam es zu keiner Reaktion. Ein ähnliches Ergebnis erhielten P i n k e r t o n und M o r a g u e s (1942) bei Arbeiten mit dem Meningopneumonitisvirus und einem aus der Taube isolierten Stamm.

Bei Versuchen, Mäuse mit Schafabortvirus intraabdominal, intracerebral und subcutan zu infizieren, erhielten S t a m p, M c E w e n, W a t t und N i s b e t h (1950) negative Ergebnisse. Dagegen gelang die intranasale Anzucht.

Aus den hier angeführten Beispielen wurde ersichtlich, daß anhand der Infektionsmodi eine Differenzierung der einzelnen Viren der Psittakose-Lymphogranulomagruppe durchgeführt werden kann. Eine absolute Beweiskraft kommt dieser Differenzierungsmethode jedoch nicht zu. Sie wird in Verbindung mit anderen Verfahren, z.B. Serum - neutralisationstesten, zu werten sein, da selbst die einzelnen Stämme des gleichen Typs Schwankungen im Organotropismus unterliegen.

II. Vergleichende Betrachtung von Eikultur und weißer Maus in der Virusanzucht.

Außer der Virusisolierung mittels der Maus gibt es eine zweite Möglichkeit, die eine diagnostische Bedeutung erreicht hat, nämlich die Anzucht des

Erregers im embryonierten Hühnerei.

B u r n e t und R o u n t r e e (1935) infizierten die Chorionallantoismembran von 7 bis 8 Tage alten bebrüteten Hühnereiern. Diese starben 5 - 14 Tage post infectionem. Die Elementarkörperchen liessen sich in Ausstrichpräparaten nachweisen. Die Anzüchtung auf der Dottersackmembran gelang S m a d e l (1943). F r a n c i s und G o r d o n (1945) geben der Züchtung auf der Chorionallantoismembran den Vorzug, da das Virus in den Dottersackmembranausstrichen schlechter dargestellt werden kann, infolge der Überdeckung mit Dotterbestandteilen.

B u r n e t, L a z a r u s und M e y e r glaubten, (1939) die größere Empfänglichkeit der Maus für das Psittakosevirus gegenüber der Chorionallantoismembran nachgewiesen zu haben. Da (nach K.F. M e y e r 1954) Versuche, das Virus vom infizierten Vogel direkt im Dottersack des embryonierten Eies zu züchten, selten erfolgreich seien, empfahl M e y e r (1954) das Virus zunächst in Mäusepassagen anzureichern. Dabei erreichte W e y e r (1955) mit der intraabdominalen Methode günstigere Ergebnisse als mit der intracerebralen oder intranasalen. W e y e r schloß keine Eikulturen an.

F a g a n (1958) stellte vergleichende Untersuchungen über die Empfindlichkeit des Mäuseversuchs und der Eikultur an. Dabei wurden von 329 Isolierungsversuchen aus verdächtigem Material 29 in der intracerebralen Methode und im Eierversuch positiv. Bei der intraabdominalen Infizierung konnte nur in 19 Fällen Virus isoliert werden. Danach ist die intracerebrale Mäuseinfizierung

ebenso erfolgreich wie die Eikultur. Aus oekonomischen Gründen zieht F a g a n die billigeren Eier der Maus vor.

Gute Ergebnisse bei der Isolierung des Virus aus jungen Wellensittichen erhielt M o n r e a l (1959) durch die intraabdominale Infizierung der Maus. Mit der intracerebralen und der Eimethode machte er keine wesentlich besseren Erfahrungen.

S t r a u c h und R o t t (1958) berichteten dagegen von Isolierungsversuchen, bei denen das Ei empfindlicher reagierte als die Maus. Von 44 Versuchen gelang der Virusnachweis neunmal in der Eikultur und nur dreimal in der Maus. Titrationsversuche ergaben im Mäuseversuch ein unterschiedliches Bild. Mit der Infektionsdosis $0,5 \times 10^{-6}$ liessen sich keine Symptome nachweisen, mit der Dosis $0,5 \times 10^{-7}$ starben 100% und mit 10^{-8} 50%. Manchmal fielen ganze Mäusegruppen für den Erregernachweis aus. Für die diagnostische Arbeit empfahlen S t r a u c h und R o t t daher eine Kombination von Ei und Maus.

III. Die experimentell infizierte weiße Maus.

1. Das klinische Bild

Nach K.F. M e y e r (1952) sind Inkubationszeit und Krankheitsverlauf abhängig vom verwendeten Mäusestamm, von der injizierten Virusmenge, der Infektiosität und vom Infektionsmodus. Virulentes Material von Psittaciden führt nach 8 - 10 Tagen zum Tode bei der intraabdominalen Injektion. Material von Tauben, Hühnern und Enten tötet die Tiere nicht immer. Die Symptome der Erkrankung sind uncharakteristisch. M e y e r (1948), (1954) be-

schrieb in den ersten Tagen post infectionem eine zunehmende Mattigkeit und Bewegungsunlust, die sich bis zur Apathie steigert. Das Fell ist struppig, die Augenlider sind als Ausdruck einer Konjunktivitis verklebt. Das Abdomen ist stark aufgetrieben, die Tiere magern ab und leiden gelegentlich an Diarrhoe. Sie sitzen zusammengekauert beieinander, sie sterben durchschnittlich zwischen dem 4. und 15. Tag post infectionem. Nach einer Krankheitsdauer von 10 bis 15 Tagen erscheinen überlebende Tiere klinisch wieder gesund.

2. Das Verhalten des Ornithosevirus in der Maus bei der intraabdominalen Verabfolgung.

a) Methoden zur Darstellung der Elementarkörperchen.

Levinthal (1930) entdeckte das Psittakosevirus im mikroskopischen Bild. Die Größe der Elementarkörperchen beträgt etwa 250 - 380 mmü. Diese sog. L-C-L-Körperchen (Levinthal, Coles, Lillie) werden mikroskopisch dargestellt durch Behandlung der Präparate nach den Färbemethoden von Castaneda, Macchiavelli bzw. Giemsa und nach der Methode von Stamp und Mitarbeitern (1950).

Der histologische Nachweis der Elementarkörperchen wurde von Fritzsch und Mitarbeitern (1956) in Milz- und Leberschnitten geführt, die nach Einbetten in Paraffin und Fixierung in Zenkerscher Lösung nach Giemsa gefärbt wurden.

Einen Vorteil des Schnittpräparates gegenüber dem Tupfpräparat sahen Moritsch und Kovac (1958) darin, daß hier die Zellen nicht aus ihrer Umgebung gelöst sind. Für ihre

Arbeit über die cytologischen Reaktionen der Maus auf die Virusinfektion war dies wichtig. In der diagnostischen Arbeit ist es bedeutungslos. Auf die in der letzten Zeit erarbeiteten Möglichkeiten zur Darstellung des Virus im Elektronenmikroskop oder mit dem Coon'schen Fluoreszenzverfahren soll nicht näher eingegangen werden, da diese Methoden sich in der praktischen Laboratoriumsdiagnostik noch nicht eingebürgert haben.

b) Der Zeitpunkt des Virusnachweises.

In einem Bericht über die Psittakoseforschung gaben M e y e r und E d d i e (1948) an, daß in Mäusen, die am zweiten Tag post infectionem gestorben waren, Virus in den Endothelzellen des Peritonealexsudates - über Leber und Milz entnommen - gefunden werden kann. Zwischen dem 3. und 15. Tag ist der Nachweis regelmässig positiv. Zwischen dem 15. und 30. Tag werden Elementarkörperchen weniger häufig entdeckt. Tötet man überlebende Tiere nach mehreren Wochen, so gelingt der Nachweis sehr selten. W e y e r (1954) gab 48 Stunden nach der Infektion als frühesten Termin eines positiven Virusbefundes an. Eine durchschnittliche Dauer von 6,4 Tagen errechneten F r i t z s c h e und Mitarbeiter (1956) für den positiven Virusnachweis. Sie fanden Virus frühestens am 4. Tag post infectionem, manchmal erst in der ersten Passage (13. und 14. Tag p.inf.) oder in der zweiten Passage (19. Tag p. inf.) W e y e r und L i p p e l t (1956) hielten es für un-

zweckmässig, die Dauer der einzelnen Passagen über 7 Tage hinaus zu verlängern, oder mehr als zwei Passagen durchzuführen, wenn eine Virusisolierung bis dahin nicht möglich war. Bei vorliegender Ornithoseinfektion konnten bereits in der Anzüchtung positive Ergebnisse erzielt werden. In überlebenden Tieren gelang der Nachweis nach 50, 52 und 60 Tagen. Danach blieb die Untersuchung erfolglos. W e y e r (1955) ermittelte Virusträger über längere Zeit: Aus Milz und Leber konnte im Infektionsversuch am 67. Tag post infect. lebendes Virus isoliert werden. M e y e r und E d d i e (1932) konnten das Psittakosevirus noch nach 132 Tagen finden.

c) Die Verteilung des Virus in den Organen.

Infektiöses Mäuseorganmaterial von experimentellen pulmonalen Psittakosen wurde intra-abdominal und intracerebral der Maus injiziert. Bei diesen Versuchen zeigte H o r n u s (1940), daß die Lunge das virushaltigste Organ ist; es folgen Leber, Hirn und Blut: Infektionen mit Lungenmaterial führten nach zwei bis drei Tagen, solche mit Blut erst nach 15 Tagen zum Tode. Bei der intraabdominalen Infektion gelangt das Virus schnell in die Milz. (B e d s o n, 1933). Dieses Ergebnis konnte B e d s o n zusammen mit G o s t l i n g (1954) bestätigen: 20 Mäuse wurden mit Milz infiziert, die eine Stunde post infect. entnommen war. Neunzehn Tiere starben. Die Autoren stellten fest, daß der Virusgehalt der Milz weiter ansteigt. Nach 16 Stunden beginnt die Vermehrung des Virus

in der Milz.

Mikroskopisch sahen B e d s o n und G o s t l i n g (1954) das Virus nicht sicher vor der 8. Stunde. Von diesem Zeitpunkt an konnten die großen Zwischenstufen des Virus gefunden werden. Nach Ablauf von 48 Stunden liegt es nur noch in Form von Elementarkörperchen vor.

B e d s o n hält die großen Formen (inclusion bodies oder giant bodies) für die vegetative Form des Virus, die es annimmt, wenn es in der Zelle eine Umgebung gefunden hat, die für die Vermehrung günstig ist. Das Elementarkörperchen (minute bodies) entsteht aus den Einschlußkörpern durch Teilung. Nach abgeschlossener Vermehrung liegt das Virus in dieser Form vor. Die Elementarkörperchen verlassen die zugrundegehende Zelle und dringen in neue Zellen ein. Dazu ist die Ausreifung zum Elementarkörperchen erforderlich; "minute bodies" scheinen dazu nicht im gleichen Maße in der Lage zu sein.

B e d s o n und G o s t l i n g machten keine Angaben über den Virusgehalt der restlichen Organe.

3. Die pathologischen Organbefunde.

Neben dem Virusnachweis spielen bei den Infektionsversuchen der weißen Maus mit dem Ornithosevirus die Sektionsbefunde als Diagnostikum eine wichtige Rolle (H e n n e b e r g 1960).

1931 beschrieben R i v e r s und B e r r y die pathologischen Organveränderungen. Bei der intra-

abdominalen Infektion fanden sie nach Eröffnung der Bauchhöhle ein zähes Exsudat mit Fibrinflocken. Die Leber war vergrößert. Sie war gekennzeichnet durch fettige Degeneration, kenntlich an der fahlen Färbung und kleinen Nekroseherden. Die Milz wies starke Schwellung auf. Sie war kräftig rot gefärbt mit kleinen oberflächlich gelegenen Nekrosen. Pankreas, Nebennieren und Intestinalorgane blieben unverändert. Die Niere zeigte schwache parenchymatöse Degenerationen. Pleura und Herz waren augenscheinlich normal. Die Lunge war sehr blutreich. Es fanden sich keine pneumonischen Herde.

Bei der intracerebralen Infektion traten pathologische Veränderungen im Gehirn auf. Wie bei der intraabdominalen Methode kam es zur Schwellung von Milz und Leber mit Nekrosen, die aber nicht so ausgeprägt waren.

Die makroskopischen Organbefunde bei der intraabdominalen Methode kennzeichnete Meyer (1952) folgendermaßen: Tritt der Tod zwischen dem 5. und 10. Tag auf, so findet man gewöhnlich im Abdomen stark fadenziehendes Exsudat, das reich an Viruspartikeln ist, Nekrosen der Leber und Milzschwellung sind häufig. Zwischen dem 15. und 30. Tag ist die Bauchhöhle angefüllt mit seröser trüber Ergußflüssigkeit, die wenig virushaltig ist. Leber und Milz sind geschwollen. Als Folge der Peritonitis beschrieben Weyer und Lippelt (1956) Fibringerinnsel in der Bauchhöhle, Fibrinauflagerungen auf den Organen und Organverwachsungen. Fortner (1953) beobachtete einen starken Meteorismus: Die Därme waren sehr hell und weit. Monreal (1958) fand feine Pankreasnekrosen.

Als mikroskopische Befunde bei der intra-abdominalen Infektion gaben R i v e r s und B e r r y (1931) folgende Beobachtungen in Leberpräparaten an: infiltrative Verfettung und granuläre Degeneration der Leberzellen, eine Reaktion der Reticulumzellen und eine Infiltration von polymorphkernigen Zellen.

Das Bild einer monocytären Entzündung sah H o r n u s (1940) im mikroskopischen Lungenpräparat von experimentell intranasal infizierten Mäusen. Elementarkörperchen wies er in der Umgebung und innerhalb der Zellen des Alveolarepithels und im Bronchialepithel nach. K o v a c (1961) faßte die Vakuolisierung des Alveolarepithels als eine virusbedingte Erscheinung auf, deren Ursache ungeklärt ist. Er bewies, daß die Virusvermehrung stets intracellulär und nicht, wie W e i s s annahm, extracellulär stattfindet. Das Virus gelangt in die Alveolargänge durch Desquamation oder Abschnürung der Epithelien. Die Monozyten von H o r n u s wurden als Alveolarepithelien identifiziert. M o r i t s c h und K o v a c (1956) konnten eine degenerative Veränderung der Monocyten, Leukocyten und anderer Exsudatzellen nicht feststellen. Sie gaben an, daß Elementarkörper in diesen Zellen nicht nachweisbar sind. Die Autoren fanden bei der intraabdominalen Infektion Virus am 4. Tag post infect. in degenerierten Zellen, deren Kerne gelappt und segmentiert scheinen. Diese Zellen bezeichneten sie als befallene Peritonealepithelzellen. Nach M o r i t s c h ist eine Identifizierung

der Zellen bezüglich ihrer Herkunft nur im Initialstadium des Virusbefalls möglich, da sie sonst zu stark verändert sind. Dieselben Autoren (1956) beschrieben das vermehrte granulomartige Auftreten dreier verschiedener Zellarten (mononucleäre Zellen, Plasmazellen und pseudoeosinophile Zellen) in den Organen als Ausdruck der spezifischen Infektion. Als eine Reaktion des Reticuloendothelialen Systems mit Anschwellung der betreffenden Zellen in allen Organen und der Bildung von Zellgranulomen kennzeichnete K o v a c (1961) die Organveränderungen. Je nach Art der Infektion werden diese in den einzelnen Organen verschieden ausgeprägt manifest. Im Organblut findet sich vermehrt Virus, das sich in den Organzellen festsetzt. Bevorzugt sind in der Leber die Parenchymzellen und Endothelien, in der Milz die Reticulumzellen und die Sinusendothelien; die Folge ist ein hyperplastischer Milztumor als Ausdruck einer Wucherung dieser Zellen.

4. Die Beurteilung des Milztumors in der Diagnostik.

Die Vergrößerung der Milz wird im allgemeinen als ein charakteristisches Zeichen einer Psittakoseinfektion der Maus angesehen. So beschrieben S c h o o p und K a u k e r (1955) diese Anschwellung als eine Hyperplasie des Milzparenchyms, die durch die virusbedingte Wucherung der Reticuloendothelien und die Veränderungen an den Sinusendothelien hervorgerufen wird. Sterben die intraabdominal infizierten Mäuse in diesen Versuchen nicht, so wird Milztumor als diagnostisch

wichtiges Zeichen gewertet. Auch W e y e r (1955) fand nach einer überstandenen Infektion Milzschwellungen.

Außerdem aber gilt der Milztumor als Zeichen einer latenten Infektion. M e y e r und E d d i e (1933) beobachteten bei klinisch unauffälligen Tieren am 132.Tag post infect. Milzschwellungen. Sie sahen darin ein Zeichen für die Neigung des Psittakosevirus sich latent in der Maus zu halten. Die Virusisolierung aus diesen Milzen war positiv. Später betonte M e y e r (1958) jedoch, daß die Splenomegalie kein untrügliches Zeichen ist. Er beschrieb Fälle, bei denen die Virusisolierung aus normalen Milzen gelang, während bei vergrößerter Milz der Nachweis negativ blieb.

IV. Das Auftreten von Antikörpern im Verlaufe der experimentellen Infektion mit Viren der Psittakose-Lymphogranulomagruppe.

1. Präcipitierende und agglutinierende Antikörper

Über das Auftreten von präcipitierenden und agglutinierenden Antikörpern liegen meines Wissens bei der Maus keine Angaben vor.

2. Neutralisierende Antikörper

B e d s o n (1938) immunisierte weiße Mäuse intraabdominal mit formalinbehandeltem Psittakosevirus. Mit Hilfe des Neutralisationstests wurden im zirkulierenden Blut der Tiere spezifische Antikörper in niedrigen Konzentrationen nachgewiesen. Die Immunität hielt wenigstens

drei Monate an, der Schutz war jedoch nicht vollständig. Infizierungen mit vollvirulentem Virus resultierte in einer stummen Infektion, die bis zu 7 Monaten andauerte.

G r a b a r und S c h o e n (1941) stellten fest, daß Organe von Mäusen, die mit dem Virus des Lymphogranuloma inguinale infiziert worden waren, neutralisierend auf virulente Virussuspensionen wirkten. Diese Kraft war auf das infizierte Organ konzentriert, z.B. bei der intranasalen Infektion auf die Lunge. Der Nachweis wurde frühestens am 11. Tag p. infect. positiv. Nach dem 70. Tag sank die Neutralisationskraft ab. Eine gleichzeitige Prüfung auf Antikörper im Serum war erfolglos. Aufgrund dieser Versuche glauben die Autoren die neutralisierenden Vorgänge in das Gewebe selbst und nicht in das Blut verlegen zu können.

G ö n n e r t (1942) konnte im Serum einiger Mäuse, die drei Reinfektionen mit dem Bronchopneumievirus überlebt hatten, keine virusneutralisierenden Antikörper nachweisen. Er mischte einen Teil einer 10%igen Virussuspension (Bronchopneumonie- und Lymphogranulomavirus) mit einem Teil Serum und inkubierte eine Stunde bei 37° C, ohne nach der Applikation dieses Virusserumgemisches eine neutralisierende Wirkung zu beobachten. Er nahm an, daß die vorhandenen Abwehrkräfte durch die Versuchsanordnung nicht erfasst wurden.

Y a n a m u r a und M e y e r (1942) konnten ebenfalls neutralisierende Antikörper nur in geringen Konzentrationen in Seren von Mäusen nach einer experimentellen Infektion mit Psitta-

kosevirus (*Microbacterium multiforme* Psittaci) nachweisen.

3. Komplementbindende Antikörper

In einer Arbeit über die Immunitätsverhältnisse nach einer Infektion der Maus mit dem "Microbact. multif. Psitt." behandelten Y a n a m u r a und M e y e r (1942) Mäuse intraabdominal mit virus-haltiger Chorionallantoissuspension, die mit 0,15%igem Formalin präpariert worden war. Das Serum einiger Tiere wurde in der Komplement-bindungsreaktion geprüft, da "in der Maus eine positive Bindung in einer Verdünnung von mehr als 1:4 beweist, daß Virus im Gewebe vorhanden sein muß". Die Tiere wurden siebenmal mit 0,5 ml im Abstand von 7 Tagen immunisiert. Nach 16 Tagen wurden sie mit einer Testdosis von 100.000 MLD getestet. Von 15 Mäusen überlebten 9. Am 193. Tag nach der letzten Impfung wurden sie entblutet. Von neun reagierten sieben Seren in der Komplement-bindungsreaktion positiv mit Bindungswerten von 1:8 bis 1:32 +++++.

E a t o n, M a r t i n und B e c k (1942) prüften die antigene Verwandtschaft zwischen den Viren der Meningopneumonitis und des Lymphogranuloma inguinale. Seren von Mäusen, die intraabdominal oder intranasal mit den beiden Viren immunisiert worden waren, zeigten in der Komplementbindungsreaktion Kreuzreaktionen mit den Antigenen dieser Viren. Als Antigen diente einmal Allantoisflüssigkeit infizierter Hühnerembryonen in der Verdünnung 1:4 oder 1:8 und Dottersack-suspensionen (Verdünnung 1:40 bzw. 1:80).

Titer von 1:4 ++++ bis 1:32 ++++ wurden abgelesen. Die Antigene aus Hühnerembryonen zeigten günstigere Resultate als Mäuselungenantigene.

Bei experimentellen Arbeiten mit dem Mäusepneumonitis- und dem Meningopneumonitisvirus der Maus konnten N i g g und E s s a t o n (1944) komplementbindende Antikörper nachweisen. Mäuse, die gegen das Meningopneumonitisvirus immunisiert waren, reagierten mit dem Antigen des Mäusepneumonitisvirus aus Dottersackkulturen mit Bindungswerten bis 1:32. Seren mit Antikörpern gegen das Mäusepneumonievirus reagierten positiv mit dem Antigen des Mäusepneumonievirus (1:16), mit dem Meningopneumonitisvirus aus Allantoiskultur mit Bindungswerten von 0 und 1:32 und mit dem Antigen des Lymphogranuloma inguinale aus Dottersack mit Titern von 1:8 und 1:32. Der Zeitpunkt der Serumgewinnung wurde nicht angegeben. In dieser Arbeit wurde die Zugehörigkeit des Mäusepneumonievirus zur Psittakosegruppe untersucht und durch die serologischen Befunde bewiesen.

Genauere Angaben sind bei W a l l (1947) zu finden. Hier wurde das Erscheinen der Antikörper in Seren von Mäusen, die mit dem Virus des Lymphogranuloma inguinale infiziert worden waren, bestimmt. In Eikultur und Mäuseversuch waren aus den Lymphknoten menschlicher Erkrankungen vier Virusstämme isoliert worden. Damit wurden Mäuse intracerebral injiziert mit je 0,03 ml. virushaltiger Suspension. Die MID betrug 10^{-5} . Die Blutgewinnung erfolgte durch Herzpunktion. Im klinischen Verlauf zeigten sich die ersten Symptome 2 Tage post infect. Innerhalb der folgenden 3 Wochen erkrankten alle Tiere, mehr als die Hälfte starb.

Überlebende erholten sich drei oder vier Wochen post infect. Nach drei bis vier Monaten erschienen sie klinisch gesund. Der Virusnachweis im Gehirn war zu dieser Zeit positiv. In niedrigen Titern waren Antikörper in der ersten Woche demonstrierbar und nach zwei Wochen regelmässig vorhanden. Während der folgenden 3 Wochen kam es zu einem Titeranstieg von 1:80 bis 1:320. Ein Gipfel war nach 3 bis 5 Wochen erreicht. Noch nach 18 Wochen konnte ein Persistieren dieser Titerhöhe registriert werden.

Während eines Mausepathogenitätsversuchs mit Taubenornithosevirus gaben S c h o o p und K a u k e r (1955) ein positives Ergebnis der Komplementbindungsreaktion fünf Wochen post infect. an. Der Bindungswert betrug 1:20. G a l e, P o m e r o y und S a n g e r (1959) prüften ein aus erkranktem Truthahn isoliertes Ornithosevirus im Mausexperiment. Bei vororientierenden Untersuchungen waren Antikörper in Seren aus der betreffenden Mausexperimente nicht nachweisbar. Nach der Infektion wurden die überlebenden Tiere nach 30 Tage entblutet. Die serologische Prüfung erzielte Titer von 1:4 bis 1:128.

Die Angaben über das Auftreten komplementbindender Antikörper in der Maus nach der Infektion mit Viren aus der Psittakose-Lymphgranulomagruppe sind spärlich. Die weiße Maus wird in der Diagnostik von Krankheiten dieser Gruppe praktisch nur zum Virusnachweis verwendet (s. G r a b e r und P o m e r o y 1958, M e y e r und E d d i e 1958).

Während W a l l das Auftreten komplementbindender

Antikörper bei Mäusen nach Infektion mit dem Virus des Lymphogranuloma inguinale und ihre Persistenz in eingehenden Untersuchungen verfolgte, blieb dieser Fragenkomplex beim Ornithosevirus bislang ungeklärt. Die folgenden Versuche werden durchgeführt, um das Antikörperbild der Maus nach einer Ornithoseinfektion zu analysieren, und um hieraus Schlußfolgerungen für den diagnostischen Wert der serologischen Untersuchungen auf komplementbindende Antikörper zu ziehen.

C. Eigene Versuche.

In der vorliegenden Arbeit sollten Fragen des Auftretens von komplementbindenden Antikörpern im Serum ornithoseinfizierter Mäuse geprüft werden.

I. Material und Methode

1. Virusstämme und Versuchstiere

Zur Infektion der Versuchstiere mit dem Ornithosevirus wurden folgende Stämme benutzt:

1. Der Psittakosestamm 1251, der dem Institut im Jahre 1961 in der 113. Hühnereipassage von Herrn Prof. Dr. Dr. E. Roots, dem ehemaligen Direktor des Veterinärhygienischen- und Tierseucheninstitutes in Gießen, zur Verfügung gestellt worden war. Zur Anzüchtung kam lyophilisierte virushaltige Allantoisflüssigkeit aus der 127. und 137. Hühnereipassage.

2. Aus der 6. Hühnereipassage stammte der Virusstamm CH-17, der im hiesigen Institut aus Tauben isoliert worden war. Er wurde ebenfalls als lyophilisiertes Material aus der 6. Hühnereipassage verwendet.

Zwei weitere Stämme, die ebenfalls aus Tauben isoliert worden waren, fanden wegen zu geringer Pathogenität für die weiße Maus keine Verwendung.

Es wurden weiße Labormäuse mit einem Durchschnittsgewicht von 20 g verwendet. Die Mäuse wurden von Züchtern geliefert, bei denen eine latente Virusverseuchung der Tiere mit größter Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden konnte. Bei Infektionsversuchen

mit Stamm 1251 trat jedoch anfänglich nach einigen Mäusepassagen Ektromelie auf. Die Versuchsreihe wurde abgebrochen und eine neue Serie mit Mäusen anderer Herkunft begonnen. Um eine latente Infektion der Mäuse mit anderen Viren der Psittakose-Lymphogranulomagruppe auszuschließen, wurden mit Organen nicht infizierter Mäuse mehrere Passagen durchgeführt. Diese Organe wurden anatomisch-pathologisch, mikroskopisch sowie serologisch überprüft.

2. Tierversuche

Ein Gramm eines Organgemisches aus Leber, Milz und Niere infizierter Tiere wurde im Porzellanmörser mit sterilem Seesand verrieben. Mit gepufferter NaCl-Bouillon, pH 7,2 nach Klöne, wurde eine Suspension im Verhältnis 1:10 hergestellt. Zur Vermeidung einer möglichen bakteriellen Verunreinigung wurde in den ersten Passagen 10 mg Streptomycin pro ml Suspensionmedium zugesetzt. Nach 30 min Aufbewahrung bei Zimmertemperatur wurden die Mäuse mit der überstehenden Flüssigkeit infiziert. Je 4 bis 6 Mäusen wurden 0,5 ml intraabdominal injiziert. Um Läsionen der Eingeweide zu vermeiden, wurden die Tiere mit dem Kopf nach unten gehalten, so daß die Organe der Schwere nach in den Oberbauch glitten. Nach acht bis zehn Tagen wurden in Äthernarkose die Axillargefäße eröffnet, um Serum für die Komplementbindung zu gewinnen. Nach Eröffnung der Bauchhöhle wurde auf die Organveränderungen: vermehrtes, fadenziehendes **Exsudat**, Milzschwellung, Lebernekrosen und fibrinöse Ablagerungen geachtet. Für den mikro-

skopischen Elementarkörperchennachweis wurden Abklatschpräparate hergestellt. Die Färbung erfolgte nach der Methode von S t a m p und Mitarbeitern, bei der sich die Elementarkörperchen rot gefärbt deutlich vom grünlichen Untergrund abheben: Die luft-trockenen Präparate wurden nach Fixierung über der Bunsenflamme 10 min in Karbolfuchsin angefärbt, das im Verhältnis 1:10 in Wasser verdünnt war. Nach Differenzierung mit 0,05%iger Schwefelsäure wurden sie in 3%igem wässrigen Malachitgrün 20 bis 30 Sekunden gegengefärbt. Die Virusmenge wurde wie folgt bewertet:

1. Nachweis weniger intrazellulär gelegener EK: +
2. Nachweis mehrerer intrazellulär gelegener EK: ++
3. Nachweis intra- und extrazellulär gelegener
EK: +++
4. Nachweis der EK massenhaft intra- und extrazellulär: ++++
5. (+) diente zur Bezeichnung von mikroskopischen Gebilden, die nicht eindeutig als Psittakosevirus gedeutet werden konnten.

Zum Ausschluß einer bakteriellen Mischinfektion wurden die Organe auf Lackmus-Laktose- und Blutagar bakteriologisch geprüft. Danach wurden Milz, Leber und Niere exentriert und in der Tiefkühltruhe bei -20°C aufbewahrt. Die Dauer der Lagerung war unterschiedlich: Für die Mäusepassagen der Anzüchtungsversuche betrug sie acht bis zehn Tage, für die Infektionsversuche und die Virustitration zwischen 20 und 30 Tagen.

Abweichungen von dieser Technik werden bei den einzelnen Versuchen besonders erwähnt.

3. Serologische Untersuchung

Die Seren der infizierten Mäuse wurden in der Komplementbindungsreaktion auf Antikörper geprüft. Mittels der vorher beschriebenen Technik wurden von einer Maus etwa 1 bis höchstens 1,5 ml Blut gewonnen. Da diese Menge nicht genügend Serum für die serologischen Untersuchungen liefern konnte, wurde jeweils ein Sammelserum von drei bis vier Tieren in einer Komplementbindungsreaktion auf Antikörper geprüft. Dem inaktivierten Serum wurden Antigen und Komplement sowie das hämolytische System zum Sichtbarmachen der Reaktion zugesetzt. Bei Anwesenheit von Antikörpern banden diese mit dem Antigen das Komplement; nach Zugabe des hämolytischen Systems blieb hier eine Trübung, da der Amboceptor zur Lyse der Hammelbluterythrozyten auch Komplement benötigt, dieses jedoch nicht mehr frei war. Waren keine Antikörper im Serum vorhanden, blieb das Komplement ungebunden und konnte sich nun mit dem Amboceptor des hämolytischen Systems verbinden: es erfolgte eine Lyse der Erythrocyten, die Reaktion war negativ.

In den Vorversuchen wurden alle zu verwendenden Reagentien aufeinander abgestimmt.

In dieser Arbeit wurde die Komplementbindungsreaktion in Anlehnung an die Methode von Mitscherlich (1955) und an das Verfahren, welches von den Behringwerken für das Ornithose-Antigen angegeben worden ist, durchgeführt.

Folgende Reagentien wurden benötigt:

1. für das hämolytische System:

a) eine 3%ige Suspension gewaschener Hammelblutery-

throcyten in 9%iger NaCl-Lösung.

- b) der hämolytische Amboceptor der Behringwerke.
- 2. Komplement der Behringwerke.
- 3. Antigen der Behringwerke.
- 4. Mäuseseren, die auf ihren Gehalt an Antikörpern geprüft wurden.

Vorversuche:

1. Amboceptortitration:

Hierbei wurden fallende Amboceptormengen gegen eine konstante Komplementmenge (z.B. 1:30) titriert. Das Röhrchen, welches gerade noch eine vollständige Lyse aufwies, galt als der gefundene Amboceptortiter. Die doppelt höhere Verdünnung dieses gefundenen Titors wurde im hämolytischen System benützt.

z.B. gefundener Amboceptortiter: 1:6000
verwendete Amboceptordosis: 1:3000

Das hämolytische System bestand aus einem Teil Amboceptorverdünnung (1:3000) und einem Teil einer 3%igen Erythrocytensuspension.

2. Komplementtitration:

Hier wurden fallende Komplementmengen gegen die gefundene Amboceptordosis titriert. Der Versuch wurde doppelreihig angesetzt:

- 1. Reihe: Komplement und NaCl
- 2. Reihe: Komplement und Antigen

Nach einem Aufenthalt von einer Stunde bei 37°C wurde allen Röhrchen hämolytisches System zugefügt; es

folgte ein zweites einstündiges Wasserbad bei 37°C, danach konnten die Ergebnisse abgelesen werden. Als Komplementeinheit wurde die Komplementmenge bezeichnet, mit der gerade noch vollständige Hämolyse erreicht wurde. Die nächst höhere Komplementmenge war die volle Komplementeinheit. Der Hauptversuch wurde mit zwei vollen Einheiten durchgeführt.

Die Berechnung der Komplementgebrauchsverdünnung erfolgte durch folgende Formel (nach K l ö n e):

Komplementverdünnung (1:30) x 0,50 (verwendete Kplt.menge)

Volumen, welches 2 Komplementeinheiten entspricht
z.B. 0,40

= Gebrauchsverdünnung

Komplementverdünnung: 1:30

volle Komplementeinheit: 0,20 $\frac{30 \times 0,50}{0,40} = 37,5$

2 volle Komplementeinheiten: 0,40

Daraus ergab sich die Gebrauchsverdünnung $x = 1:37,5$

(Die Komplementtitration ist in Tabelle Nr. 1 dargestellt)

3. Hauptversuch.

Die Komplementbindungsreaktion wurde in der Kältebindung nach der Kolmer-Technik durchgeführt.

Bei 56°C wurden die zu untersuchenden Seren 1 h lang inaktiviert; (Zerstörung des eigenen Komplements). Verdünnungsreihen von 1:10 bis höchstens 1:320 wurden hergestellt. Jede Stufe enthielt 0,25 ml Serumverdünnung, dazu wurden 0,25 ml Antigen und 0,5 ml Komplement gegeben. Im Kühlschrank wurden die Seren nun

18 bis 24 h bei 4°C aufbewahrt. Anschliessend wurden jedem Röhrchen 0,5 ml des hämolytischen Systems zugesetzt. Nach einem Wasserbadaufenthalt von 20 bis 30 min. bei 37°C wurde abgelesen; ein zweites Mal nach 24 Stunden.

Der Antikörpergehalt wurde durch die Angabe der Serumverdünnung und durch den graduellen Reaktionsausfall ausgedrückt:

100%ige Hämolysehemmung: ++++
 75%ige Hämolysehemmung: +++
 50%ige Hämolysehemmung: ++
 25%ige Hämolysehemmung: +

Das gleichzeitig angesetzte Kontrollröhrchen ohne Serum durfte keine Hämolyse zeigen.

Tabelle Nr. 1

Komplementtitration.

Komplement 1:30 ml	phys.koch- salzlösung ml	Antigen	Hämolyt. System	
			Amboceptor 2E ml	hämolyt. 3%ig ml
0,10	0,65	0,25	0,25	0,25
0,15	0,60	0,25	0,25	0,25
0,20	0,55	0,25	0,25	0,25
0,25	0,50	0,25	0,25	0,25
0,30	0,45	0,25	0,25	0,25
0,35	0,40	0,25	0,25	0,25
0,40	0,35	0,25	0,25	0,25
0,45	0,30	0,25	0,25	0,25
0,50	0,25	0,25	0,25	0,25
Wasserbadaufenthalt 1 Stunde bei 37°C			Wasserbadaufenthalt 20-30 minuten bei 37°C	

-33a-

Tabelle Nr. 2

Hauptversuch

Kontrollen

Serumverdünnung	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640	1 : 20	1 : 40	Serum	Antigen
-----------------	--------	--------	--------	---------	---------	---------	--------	--------	-------	---------

Serummenge	NaCl	0,475	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,475	0,25	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25NaCl
	Serum	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25

Antigen	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
							NaCl	NaCl	Antigen	

Komplement	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	18- 24 h bei 4°C								

Hämolytisches System	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
----------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

20- 30 min bei 37°C

II. Versuchsfolge.

1. Anzüchtung der eiadaptierten Stämme in der weißen Maus.

Durch mehrere Passagen sollten die beiden Virusstämme 1251 und CH-17 an die Maus adaptiert werden. Gleichzeitig sollte ihre Pathogenität für dieses Versuchstier gesteigert werden.

a) Virusstamm 1251

Für den Stamm 1251 waren sieben Mäusepassagen erforderlich, ehe die klinischen und pathologisch-anatomischen Symptome voll ausgebildet waren. Für jede Mäusepassage wurden 4 Mäuse infiziert. Von der 7. Passage an konnte der Elementarkörperchennachweis als hochpositiv angesehen werden. Schon in den Anfangspassagen erkrankten die Tiere am 5. Tag post infect. Von 4 Mäusen der 1. Passage starb eine. Der Organbefund zeigte die für eine Ornithoseinfektion spezifischen Veränderungen. Am 8. und 9. Tag post infect. wies ein Teil der getöteten Tiere leichte Milz- und Leberschwellung, fadenziehendes Exsudat und fibrinöse Beläge der Bauchorgane auf. Der Elementarkörperchennachweis war nicht eindeutig. Von der 5. Passage an konnte eine zunehmende Pathogenität des Virus für die Maus beobachtet werden. Die Tiere erkrankten nun schon am 2. Tag post infect. unter dem Bild einer sehr schweren Allgemeinerkrankung, gekennzeichnet durch Apathie, stuppiges Fell, Konjunktivitis und, bei einigen Tieren, durch ein stark aufgetriebenes Abdomen bei gleichzeitiger Diarrhoe.

Am 5. Tag wurden Todesfälle beobachtet. Pathologisch-anatomisch sah man fadenziehendes und fibrinⁿöses getrübbtes Exsudat, leichte Milz- und Leberschwellung mit Fibrinbelägen. Leber und Milz zeigten ausgedehnte Adhäsionen. Elementarkörperchen konnten massenhaft nachgewiesen werden. In der 7. Passage wurden bei mikroskopischem Elementarkörperchennachweis kein Milztumor, dafür aber zahlreiche kleine nekrotische Herde auf der Leberoberfläche gefunden. Bei den Mäusen der 8. Passage konnte klinisch, pathologisch-anatomisch sowie durch den Virusnachweis eine sichere Ornithoseerkrankung nachgewiesen werden.

b) Virusstamm CH-17.

Ein ähnliches Bild bot die Anzüchtung des Stammes CH-17. Jedoch waren hier die Symptome der Infektion schon in den ersten Passagen stärker ausgeprägt als beim Stamm 1251. Neben der Anzüchtung wurden acht Passagen durchgeführt. Für jede Passage kamen vier Tiere zur Verwendung, so daß insgesamt 36 Mäuse infiziert wurden. Die ersten Mäuse starben in der 1. Passage am 4. Tag post infect. Es fanden sich Lebernekrosen, Fibrinauflagerungen und fadenziehendes Exsudat. Milzschwellung konnte erst in der 8. Passage nachgewiesen werden. Der Elementarkörperchennachweis war bereits in der 1. Passage positiv.

Die Anzüchtungsergebnisse der Virusstämme 1251 und CH-17 sind in Tabelle Nr. 3 dargestellt .

c) Serologische Untersuchung.

Die Seren jeder Passage wurden am 8. oder 9. Tag post infect. gewonnen und der Untersuchung unter-

Tabelle Nr. 3

Anzüchtungsergebnisse der Stämme 1251 und CH-17 in der weißen Maus

Virus- stämme	Zahl der Passagen								
1251	A	1	2	3	4	5	6	7	8
klinisch sichtbare Erkrankung	+	+	+	-	+	-	+	+	+
Sterblich- keitsquote	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	3/4	3/4
path.-anat. Organveränd- erungen	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Virusnach- weis	-	nicht eindeutig				+++	+	++++	++++
KBR Seren vom 8.u.9.Tag	1:10 -	1:10 ++	1:10 ++	1:10 -	1:10 -	1:10 ++	1:10 -	1:10 -	1:10 -
CH-17	A	1	2	3	4	5	6	7	8
klinisch sichtbare Erkrankung	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sterblich- keitsquote	0/4	1/4	2/4	0/4	0/4	3/4	0/4	3/4	3/4
path.-anat. Organveränd- erungen	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Virusnach- weis	-	+++	++++	+++	+++	++++	+++	++++	++++
KBR Seren vom 8.u.9.tag	1:10 ++	1:10 ++++ 1:20	1:10 ++	1:10 -	1:10 -	1:10 -	1:10 ++	1:10 -	1:10 -

klinisch sichtb. Erkrankung: + = Mattigkeit, Freßunlust, Konjunktivitis
 path.-anat. Befund: + = Milztumor, Leberschwellung, fadenziehendes Exsudat
 Virusnachweis: + = wenige intracellulär gelegene Elementarkörperchen (EK)
 ++ = vermehrt intracellulär gelegene EK
 +++ = intra- u. extracellulär gelegene EK
 ++++ = massenhaft intra- u. extracellulär gelegene EK
 KBR = Komplementbindungsreaktion;
 + = 25%ige, ++ = 50%ige, +++ = 75%ige, ++++ = 100%ige Hämolyse-
 hemmung

unterzogen. Serum von je drei bis vier Mäusen wurde als Sammelserum untersucht. Aus beiden Anzüchtungsversuchen wurden jeweils neun Sammelseren auf Antikörper geprüft. (siehe Tabelle Nr. 3) Hierbei reagierten die Seren der 1251-Passagen negativ. Die Seren der 1., 2. und 5. Mäusepassage konnten nicht gewertet werden, da eine 50%ige Hämolysehemmung in der Anfangsverdünnung (1:10) auftrat.

Die mit dem Stamm CH-17 infizierten Mäuse reagierten in der Komplementbindungsreaktion in der ersten Passage am 8. Tag post infect. in der Verdünnung 1:10 positiv. (siehe Tabelle Nr. 3) In den folgenden Verdünnungsstufen verlief die Reaktion negativ. Die Seren aus der Anzüchtung der 2. und 6. Passage zeigten unvollständige Bindung und wurden daher auch nicht gewertet.

d) Ergebnisse der Anzüchtung.

Die Anzüchtungsversuche zeigten, daß beide Virusstämme für die Maus pathogen sind. Vergleicht man das Verhalten der Stämme, so kann man feststellen, daß Stamm CH-17 sich zunächst leichter in der Maus anzüchten ließ. Aus den Endergebnissen wird jedoch für beide Stämme gleiche Pathogenität ersichtlich: für jeden Versuch wurden 36 Mäuse infiziert. Davon starben ^{im} 1251-Test elf, im CH-17-Test zwölf Mäuse.

Die Erkrankung der Tiere konnte als sichere Infektion mit dem Ornithosevirus angesehen werden. Die Organbefunde nach intraabdominaler Infektion wurden als spezifisch gewertet. Die Milzschwellung benutzten wir zur Festigung der Diagnose, wenn auch in späteren Versuchen häufig die Angaben von K.-F. Meyer

(1958) bestätigt werden mußten, daß der Milztumor kein zuverlässiges Symptom darstellt. Der Virusnachweis wurde im Abklatschpräparat erbracht. Superinfektionen bakterieller Natur wurden durch die beschriebene Methode ausgeschlossen; desgleichen eine latente Infektion des Mäusekollektivs der Versuchstiere mit dem Bronchopneumovirus durch Kontrollpassagen.

e) Virustitration.

Zur Durchführung der Infektionsversuche mit den für die Maus hoch pathogenen Stämmen 1251 und CH-17, war es erforderlich, die LD 50 dieser Virusstämme zu bestimmen. Die Berechnung erfolgte nach der Methode von Reed und Muench (1938).

Für Stamm 1251 wurde virushaltiges Organmaterial aus der 7. Mäusepassage, für Stamm CH-17 aus der 2. Mäusepassage zu einer Suspension mit gepufferter NaCl-Bouillon verarbeitet. Zur Verwendung kam der nach niedertouriger Zentrifugierung gewonnene Überstand. Die Ausgangsverdünnung betrug 1:10. Die folgenden Verdünnungsstufen wurden mittels des Faktors 10 erreicht, so daß für Stamm 1251 die Verdünnungsreihe 10^{-2} bis 10^{-4} , für Stamm CH-17 die Reihe 10^{-2} bis 10^{-8} zur Verfügung stand.

Für die Titration des Stammes 1251 wurden acht Mäuse mit je 0,5 ml jeder Verdünnungsstufe injiziert, insgesamt also 24 Mäuse. Für die Titration des Stammes CH-17 kamen für eine Virusverdünnung acht Mäuse zur Verwendung, so daß 56 Mäuse zur Verfügung standen.

In getrennten Gruppen wurden die Mäuse nun 14 Tage lang beobachtet. Erkrankungen und Todesfälle wurden registriert, der Elementarkörperchennachweis wurde im Abklatschpräparat geführt.

Aus diesen Versuchen ergab sich die LD 50 für Stamm 1251 mit $0,5 \times 10^{-2,2}$. Der absolute Wert wurde mit dieser Titration nicht erfasst. Er lag vermutlich höher. Die LD 50 für Stamm CH-17 wurde nach Reed und Muench mit $0,5 \times 10^{-4,21}$ errechnet.

In den anschliessenden Infektionsversuchen wurden die Tiere mit diesen Dosen infiziert. Abweichungen werden bei der Versuchsbeschreibung erwähnt.

2. Infektionsversuche.

Für die einzelnen Versuchsreihen wurden durchschnittlich 30 bis 40 Tiere infiziert. Auf den vierten Tag post infect. folgend wurden drei bis vier Mäuse an jedem zweiten Tag zur Serumgewinnung entblutet: In den ersten Versuchsreihen bis zum 12. bzw. 14. Tag; in einer zweiten Reihe wurde Blut vom 14. bis zum 24. Tag entnommen. Eine anfängliche Einteilung in kranke und gesunde Tiere vom gleichen Tag post infect. zeigte sich in der Komplementbindungsreaktion bedeutungslos und wurde deshalb nicht weiter durchgeführt.

Für jedes Tier wurde der pathologisch-anatomische, der mikroskopische und der klinische Befund erhoben.

a) Stamm 1251

(1) Mäuseseren vom 4. bis 12. Tag post infectionem

40 Mäuse wurden mit der errechneten letalen Dosis $0,5 \times 10^{-2,2}$ intraabdominal infiziert.

Etwa 60% der Tiere erkrankten. Die ersten leichten Symptome traten am 3. Tag post infect. auf. Zwei Tiere starben am 6. und 8. Tag. Wegen der kurzen Beobachtungszeit konnte die Rekonvaleszenz nicht festgestellt werden. Bei den kranken Tieren wurde bereits am 4. Tag Virus intra- und extrazellulär gelegen gefunden, bei den gesund erscheinenden erst vom 10. Tag an. Am 6. Tag post infect. waren pathologische Organbefunde zu beobachten. Das Peritonealexsudat war stark fadenziehend. In den folgenden Tagen waren Fibrinbeläge, kleine Nekrosen in der Leber und Verdoppelung der Milzgröße zu sehen. Bei den gesund erscheinenden Tieren ließ sich erst am 12. Tag post infect. vermehrtes fadenziehendes Exsudat nachweisen. Die Prüfung der Seren auf komplementbindende Antikörper verlief negativ. (Die Ergebnisse sind in Tabelle Nr. 4 zusammengefaßt).

(2) Mäuseseren vom 14. bis 22. Tag post infect.

35 Mäuse wurden unter den gleichen Versuchsbedingungen wie oben infiziert. Zwischen dem 5. und 10. Tag starben neun Tiere. Bei ihnen war der Elementarkörperchennachweis positiv. Die Rekonvaleszenz der Überlebenden begann am 12. Tag. Tabelle 4a zeigt, daß im Gegensatz zur ersten Versuchsserie die Organbefunde ein einheitliches Bild boten. Vorherrschend war eine Vergrößerung der Milz. Das Exsudat war vermehrt und fadenziehend. In einem Fall (16. Tag post infect.) fiel die mit nekrotischen Herden übersäte Leber besonders auf. Der Elementarkörperchennachweis war abgesehen von den

am 18. und 24. Tag getöteten Mäusen positiv. Es scheint, daß nach dem 14. Tag post infect. das Virus langsam aus dem Exsudat bzw. dem Organismus verschwindet.

Die Komplementbindungsreaktion war in zwei Fällen positiv, nämlich in Seren von Mäusen, die am 14. und 22. Tag post infect. getötet wurden. Bis zur Serumverdünnung von 1:20 wurde Hemmung der Hämolyse beobachtet.

(3) Mäuseseren vom 20. Tag post infectionem.

Überlebende Mäuse des Titrationsversuchs mit Stamm 1251 (Vgl. Abschnitt II. 1 e) wurden am 20. Tag post infect. entblutet. Es handelte sich um Tiere, die nach einer schweren Erkrankung genesen waren, bis auf je zwei Tiere in der Verdünnung $1:10^{-2}$ und $1:10^{-3}$. Diese waren noch am 20. Tag krank. Alle Tiere wiesen pathologische Organbefunde auf. Auffällig war der besonders starke Milztumor und das fadenziehende Exsudat. Der Elementarkörperchennachweis konnte nur in einem Falle erbracht werden. (Siehe Tabelle Nr. 4b).

Die Komplementbindungsreaktion von sechs Sammelseren war positiv. Die Titer der Seren betru en bis 1:40 +++. Das Sammelserum von zwei kranken Tieren war negativ. (Siehe Tabelle 4b)

b) Stamm CH_17

(1) Mäuseseren vom 4. bis 16. Tag post infectionem. Da sich die Infektionsdosis, die im Titrationsversuch festgestellt worden war, nach zu langer

Tabelle Nr. 4

Erste Infektionsserie mit Stamm 1251

	4.		6.		8.		10.		12.	
Zeitpunkt in Tagen post. inf.	krank	gesund	krank	gesund	krank	gesund	krank	gesund	krank	gesund
klinisch sichtbare Erkrankung	+		+		+		+		+	
Sterblich- keitsquote	0/4	0/4	1/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
path.-anat. Organver- änderungen	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+
Virusnach- weis	+++	(+)	+++	(+)	+++	(+)	++++	++	++	++
KBR	-	-	EH	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle Nr. 4a

Zweite Infektionsserie mit Stamm 1251

Zeitpunkt in Tagen post inf.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.
klinisch sichtbare Erkrankung	R R	R	R	R	R	R	R
path.-anat. Organver- änderungen	-	+	+	+	+	+	+
Virusnach- weis	+++	++	++	-	+	+	-
KBR	1:10 -	1:10 ++++ 1:20 +++	1:10 -	1:10 -	1:10 -	1:10 ++++ 1:20 ++++	1:10 -

Die Legende zu den Tabellen Nr. 4 und 4b entspricht der Legende der
Tabelle Nr. 3.

EH= Eigenhemmung R= rekonvaleszente Tiere vom 10. Tag post inf. an.

Tabelle Nr. 4b

Rekonvaleszenten aus einem Titrationsversuch des Stammes 1251

Zur Titration benutzte Ver- dünnungsstufe	$1:5 \times 10^{-1}$	$1:5 \times 10^{-2}$	$1:10^{-2}$	$1:10^{-3}$	$1:10^{-4}$
klinisch sicht- bare Erkrankung Zahl der ver- wendeten Tiere in ()	- (1)	R (4)	R(3)	+(2) R(3)	+(2) R(3)
path.-anat. Or- ganveränderungen	+	+	+	+	+
Virusnachweis	-	-	(+)	-	-
KBR	1:10 ++++ 1:20 ++++ 1:40 ++	1:10 ++++ 1:20 ++++ 1:40 ++++	1:10 ++++ 1:20 ++++ 1:40 ++++	1:10 - 1:20 - 1:40 +++	1:10 ++++ 1:20 ++++ 1:40 +

Die Legende zur Tabelle Nr.4b entspricht der Legende der Tabelle Nr. 3 .

R= Rekonvaleszenten

Lagerung der Virussuspension in der Tiefkühltruhe als zu niedrig erwies, wurde für die erste Serie des Stammes eine konzentriertere Suspension verwandt. 30 Mäuse wurden mit je einem ml. Organsuspension in der Verdünnung $1:10^{-2}$ infiziert. Ausgangsmaterial war die $1:10$ Suspension des Titrationsversuchs, die drei Wochen lang bei -20°C aufbewahrt worden war.

Am 5. und 6. Tag post infect. traten leichte Krankheitserscheinungen auf. Kein Tier starb. Die ersten Tiere wurden am 4. Tag post infect. getötet und entblutet. Der Organbefund war negativ, der Elementarkörperchennachweis konnte nicht eindeutig erbracht werden. Bei den Mäusen, die am 12. Tag post infect. getötet wurden, war eine geringe Milzvergrößerung nachweisbar. Fadenziehendes Exsudat konnte vom 6. bis zum 12. Tag festgestellt werden. Hier war auch der Elementarkörperchennachweis positiv. Die Komplementbindungsreaktion brachte für sämtliche Proben ein negatives Ergebnis.

(2) Mäuseseren vom 16. bis 24. Tag post infect. Hierzu wurden 30 Tiere infiziert. Als Ausgangsmaterial dienten Organe der 5. Mäusepassage aus den Anzüchtungsversuchen, die etwa 30 Tage in der Tiefkühltruhe gelagert hatten. Dies erschien angebracht, da das früher benutzte und in Bouillon suspendierte, eingefrorene Virus einen Virulenzverlust erlitten hatte. Die Lagerungszeit für das unverdünnte Organmaterial und die Organsuspension war gleich lang.

Die Tiere wurden mit 0,5 ml einer $1:10^{-5}$ verdünnten Suspension infiziert. Diese Dosis erwies sich zum Teil als letal: Von 30 Mäusen starben 5 nach dem 6. und 10. Tag post infect. Elementarkörperchen wurden intra- und extrazellulär gefunden. Das klinische Bild zeigte eine mäßig schwere Allgemeinerkrankung bei der Mehrzahl der Tiere, die sich vom 14. Tag an zurückbildete. Vom 16. Tag an wurden an jedem 2. Tag drei bis vier Mäuse zur Serumgewinnung getötet. Die Organveränderungen waren nicht sehr stark ausgeprägt. Geringe Milzvergrößerung sowie wenig fadenziehendes Exsudat wurden beobachtet. Der Elementarkörperchennachweis gelang bis zum 20. Tag. Danach waren die Untersuchungen negativ. Bei den sieben Sammelseren blieb die Komplementbindungsreaktion negativ.

(Die Ergebnisse der Infektionsversuche mit Stamm CH-17 sind in den Tabellen 5 und 5 a zusammengefaßt).

Überlebende Tiere des Titrationsversuches dieses Stammes waren zur serologischen Prüfung nicht mehr vorhanden.

3. Seren nichtinfizierter Kontrollmäuse.

Die Seren von 40 Virusfreien Mäusen, bezogen von der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tübingen, wurden in der Komplementbindungsreaktion untersucht. Es sollte festgestellt werden, ob bei nicht-infizierten Tieren unspezifische komplementbindende Titer auftreten. Es wurden die Seren von je zwei Mäusen in einem Versuch angesetzt.

Tabelle Nr. 5

Erste Infektionsserie mit Stamm CH-17

Zeitpunkt in Tagen post infect.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.
klinisch sichtbare Erkrankung	-	+	+	+	+	-	R
Sterblich- keitsquote	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
path.-anat. Organver- änderungen	-	+	+	+	+	-	-
Virusnach- weis	(+)	(+)	-	++	+	++	++
KBR	2x 1:10 -	2x 1:10 -	2x 1:10 -	2x 1:10 -	2x 1:10 -	2x 1:10 -	1x 1:10 -

Tabelle Nr. 5a

Zweite Infektionsserie mit Stamm CH-17

Zeitpunkt in Tagen post infect.	16.	18.	20.	22.	24.
klinisch sichtbare Erkrankung	R	R	R	R	R
path.-anat. organver- änderungen	+	+	+	+	+
Virusnach- weis	++	(+)	+	±	-
KBR	1:10 -	1:10 -	1:10 -	1:10 -	1:10 -

Die Legende zu den Tabellen Nr. 5 und 5a entspricht der
Legende zur Tabelle Nr. 3

R = Rekonvaleszenten

Das Ergebnis war negativ.

4. Auswertung diagnostischer Versuche des Instituts.

Zur Bearbeitung des genannten Themas wurden mir die Ergebnisse der Tierversuche zur Verfügung gestellt, die während eines Zeitraumes von vier Jahren im Institut zu diagnostischen Zwecken durchgeführt worden waren. Die im Tierversuch verwandten Mäuse waren pathologisch-anatomisch, mikroskopisch und serologisch untersucht worden.

Aus dem diagnostischen Material wurden neun Virusstämme isoliert. Es handelte sich um die Stämme 2431, 1727 und 942 aus Wellensittichen, 1171 aus Papagei, 924, 1487 und CH-17 aus Taube. Für den Stamm 2385 sind Ziervögel und für den Stamm 2725 ein exotischer Vogel als Quelle angegeben. In allen Fällen konnte Virus in den ersten beiden Mäusepassagen nachgewiesen werden. Die Tiere erkrankten schwer, Todesfälle wurden zwischen dem 4. und 12.Tag, aber auch noch am 17. und 19.Tag post infect. gesehen.

Beschreibung der positiven Anzüchtungsversuche.

Der Stamm 2431 zeigte in der Anzüchtung keine Mäusepathogenität. Sektionsbefund und Elementarkörperchennachweis waren negativ. In der ersten Passage erkrankten die Tiere leicht. Im Sektionsbefund vom 9.Tag fand sich fadenziehendes Exsudat. Der Elementarkörperchennachweis und die serologischen Untersuchungen verliefen negativ. In der 2.Passage starben die Tiere am 6.Tag post infect. Bei allen fand sich ein Milztumor mittleren Grades und fadenziehendes Exsu-

dat, in welchem im Abklatschpräparat Elementarkörperchen nachgewiesen wurden. Serologische Untersuchungen wurden nicht durchgeführt.

Der Stamm 924 erwies sich bereits in der Anzüchtung mäusepathogen. Die Tiere erkrankten frühzeitig und starben zwischen dem 7. und 9.Tag post infect. Das Virus konnte erst in den anschließenden Passagen eindeutig nachgewiesen werden. Seren aus der 1. und 2. Passage vom 10. Tag post infect. reagierten mit Titern von 1:20 und 1:80 positiv.

Für Stamm 2385 war die Anzüchtung und eine weitere Passage erforderlich. Die erstere verlief negativ. In der Passage erkrankten die Tiere schwer, eine Maus kam ad exitum. Am 10.Tag post infect. ergab die Sektion eine Vergrößerung der Milz und fadenziehendes Exsudat. Der Elementarkörperchennachweis war positiv. Mit einem Bindungswert von 1:80 wurde die Komplementbindungsreaktion positiv.

Der Verlauf der Anzüchtung und der drei Passagen mit Stamm 1487 war wenig kennzeichnend: leichte klinische Symptome in der 2. Passage, vereinzelt intracellulär gelegene Elementarkörperchen. Die Komplementbindungsreaktion mit Seren aus der 2.Passage am 10.Tag post infect. war negativ.

Der Stamm 1171 rief in der Anzüchtung keine Symptome einer Ornithoseinfektion der Maus hervor. Die Komplementbindungsreaktion jedoch zeigte mit Seren vom 10 Tag post infect. unvollständige Bindung in einer Verdünnung von 1:20. Seren vom 20.Tag reagierten im selben Titerbereich vollständig. In den folgenden Passagen blieb die Komplementbindungsreaktion mit Seren vom 10. und 20. Tag post infect. ergebnislos, wobei die klinischen und pathologisch-anatomischen Befunde voll ausgeprägt waren. Der Elementarkörper-

chennachweis war bereits in der 1. Passage positiv. Der Stamm 942 war von der Anzüchtung an hoch pathogen für die Maus. In allen Passagen kamen Tiere ad exitum. Bei der Sektion am 10. und 20. Tag post infect. fand man eine mittlere Milzschwellung und fadenziehendes Exsudat. Der Elementarkörperchennachweis am 10. Tag post infect. war positiv, am 20. Tag wurde er nicht durchgeführt. Am 10. Tag post infect. wurde Serum nur im Anzüchtungsversuch gewonnen. Die Komplementbindungsreaktion war negativ. Seren aus der Anzüchtung und aus der 2. Passage vom 20. Tag post infect. zeigten unvollständige Bindung in der Verdünnung 1:10. Schon in der Anzüchtung gelang bei Virusstamm 1727 der Elementarkörperchennachweis. Klinische Symptome und pathologische Organbefunde waren vorhanden. Die Komplementbindungsreaktion mit Serum vom 4., 5. und 10. Tag post infect. blieb negativ. Die Infektion mit Stamm 2725 verursachte in der Anzüchtung eine leichte Erkrankung aller Tiere. Der pathologisch-anatomische Befund sowie der mikroskopische Virusnachweis vom 10. und 20. Tag post infect. fiel negativ aus. Serum vom 20. Tag post infect. reagierte mit einem Titer von 1:80 positiv. Der Verlauf der 1. Passage entsprach dem der Anzüchtung. Mit Serum vom 10. Tag post infect. wurde ein Titer von 1:80, am 20. Tag post infect. ein Titer von 1:20 erzielt. Virus wurde in der 2. Passage gesehen. Die Organbefunde waren positiv. In der 3. Passage wurden Elementarkörperchen und Milztumor nachgewiesen. Die Komplementbindungsreaktion mit Serum vom 20. Tag post infect. wurde mit einem Titer von 1:40 positiv.

Die Ergebnisse werden aus Tabelle Nr. 6 ersichtlich. Eine Zusammenstellung aller Ergebnisse ist in Tabelle Nr. 7 durchgeführt.

[illegible]

Tabelle Nr. 7

Zusammenstellung sämtlicher Ergebnisse

Virus- stamm	Gesamt- zahl d. nBR	Anzahl d. pos. KBR	Zeitpunkt (Tage p.i.)	Titer T	Anzahl d. neg. KBR	Zeitpunkt (Tage p.i.)
2431	2	0	-	-	2	7.-12.
924	2	2	7.-12.	1x 1:80 ++++ 1x 1:20 ++++	-	-
2385	2	1	13.-18.	1:40 ++++	1	7.-12.
1487	1	0	-	-	1	7.-12.
1171	5	2	7.-12. 19.-24.	1:10 +++++ 1:20 +++++	3	1x 7.-12. 2x 19.-24.
1727	3	0	-	-	3	2x 1.-6. 1x 7.-12.
2725	5	4	7.-12. 19.-24.	1x 1:80 +++++ 1x 1:20 +++++ 1x 1:40 +++++ 1x 1:80 +++++	1	7.-12.
CH-17	1	0	-	-	1	7.-12.
1251(A)	9	0	-	-	9	2x 1.-6. 7x 7.-12.
1251	24	8	13.-18. 19.-24.	1x 1:20 +++ 3x 1:40 +++++ 4x 1:20 +++++	16	4 x 1.-6. 7x 7.-12. 2x 13.-18. 3x 19.-24.
CH-17(A)	9	1	7.-12.	1:10 +++++	8	1x 1.-6. 7x 7.-12.
CH-17	20	0	-	-	20	6x 1.-6. 6x 7.-12. 5x 13.-18. 3x 19.-24.

D. Besprechung der Ergebnisse.

I. Eigene Ergebnisse.

Die vorstehend beschriebenen Versuche dienten zur Klärung der Frage, von welchem Zeitpunkt nach der Infektion mit Ornithosevirus komplementbindende Antikörper bei Mäusen auftreten. Vorbedingung hierfür war, gut an dieses Versuchstier adaptierte Virusstämme zur Verfügung zu haben. Zu diesem Zweck dienten die eingangs beschriebenen Anzüchtungsversuche und Passagen. Dabei zeigten beide Virusstämme mit wachsender Zahl der Passagen eine steigende Pathogenität für Mäuse, gekennzeichnet durch die beschriebenen klinischen Symptome, die Organbefunde, den Virusnachweis und die Letalität.

Stamm 1251 konnte von der 6. Mäusepassage an als hoch pathogen für Mäuse gewertet werden. Für Stamm CH-17 wurde der Nachweis der Pathogenität bereits in den ersten beiden Passagen erbracht. Zur Erhaltung der Pathogenität war eine Weiterzüchtung notwendig, da die Tiere in der 3. Passage klinisch nur leicht erkrankten. Volle Pathogenität wurde in der 5. Passage erreicht.

Die unterschiedlichen Reaktionen der Tiere innerhalb einer Passage und in den einzelnen Passagen können ihre Ursache in der zum Teil unterschiedlichen Größe der verwendeten Tiere und wahrscheinlich mehr noch in der, dem Einzeltier eigenen Empfänglichkeit und Reaktionsfähigkeit haben, die sicherlich auch bei Tieren gleichen Alters und gleicher Herkunft vorhanden ist.

Das Auftreten komplementbindender Antikörper sollte geprüft werden, indem in Abständen von zwei Tagen vom 4. Tag post infect. an jeweils eine Gruppe von drei

bis vier Mäusen getötet und serologisch untersucht wurden. Hierzu war es erforderlich, die Infektionsdosis so niedrig zu wählen, daß bei der überwiegenden Mehrzahl der Versuchstiere die Infektion zwar haftete, ein letaler Ausgang, der mit dem Zweck des Versuches nicht vereinbar gewesen wäre, aber vermieden werden konnte.

Wie es sich bei den einzelnen Infektionsserien herausstellte, war diese Voraussetzung weitgehend erfüllt. Sowohl die klinischen, als auch die pathologisch-anatomischen und mikroskopischen Befunde entsprachen dieser Forderung:

Von der ersten Serie des Stammes 1251 erkrankten von 40 infizierten Mäusen 24, 2 Tiere starben, der Rest blieb bis zum Abbruch des Versuches krank. In der zweiten Serie des gleichen Stammes erkrankten fast alle der 35 infizierten Mäuse; 9 Tiere starben; am 12. Tag post infect. setzte die Rekonvaleszenz ein. Für die dritte Serie kamen überlebende Tiere des Titrationsversuches zur Verwendung. In beiden Infektionsserien des Stammes CH-17, für die insgesamt 60 Mäuse infiziert wurden, erkrankten etwa 40 Tiere. Davon entfielen 30 auf die zweite Serie. Hier kam es zu fünf Todesfällen.

Die serologischen Ergebnisse der Anzüchtungsversuche und der Infektionsserien wurden zusammen ausgewertet.

Beim Anzüchtungsversuch des Stammes 1251 reagierten die 9 Sammelseren, die am 8. und 9. Tag post infect. von je 3-4 Mäusen gewonnen worden waren, negativ. Die Seren aus der Anzüchtung des Stammes CH-17 vom 6., 8. und 9. Tag post infect. reagierten ebenfalls negativ mit Ausnahme einer Probe. Diese reagierte im Titerbereich 1:10 positiv.

Die Infektionsserien des Stammes 1251 ergaben folgendes Bild: Am 20. Tag post infect. reagierten in der Komplementbindungsreaktion 6 Sammelseren bis zur Titerhöhe 1:40 positiv. Am 14. und 22. Tag post infect. wurde die Reaktion je einmal im Titerbereich von 1:20 positiv. Diesen acht positiven Reaktionen stehen sechzehn negative gegenüber. Elf davon wurden mit Seren vom 4., 6., 8., 10. und 12. Tag post infect. durchgeführt. Je ein Sammelserum stammte vom 16., 18. und 24. Tag, zwei vom 20. Tag.

Die 20 Sammelseren der Infektionsserien des Stammes CH-17, die im Zeitraum vom 4. bis zum 24. Tag gewonnen wurden, reagierten in der Komplementbindungsreaktion sämtlich negativ.

Von den insgesamt 62 in der Komplementbindungsreaktion auf Antikörper untersuchten Sammelseren ornithoseinfizierter Mäuse reagierten neun positiv. Die verundzwanzigtägige Versuchsdauer wurde in vier gleichlange Zeitspannen eingeteilt:

1. vom 1.-6. Tag reagierten die 13 untersuchten Seren
negativ
2. vom 7.-12. Tag reagierten von 28 untersuchten Seren
1 positiv (9. Tag 1:10)
3. vom 13.-18. Tag reagierten von 8 untersuchten Seren
1 positiv (14. Tag 1:20)
4. vom 19.-24. Tag reagierten von 13 untersuchten Seren
7 positiv
(20. Tag 1x 1:20; 5x 1:40; 22. Tag 1x 1:20)

Die serologischen Untersuchungen ergaben, daß bei der überwiegenden Mehrzahl der geprüften Tiere vor dem 20. Tag post infect. komplementbindende Antikörper in höherem Titerbereich nicht auftreten, obwohl anhand der klinischen, pathologisch-anatomischen und mikroskopi-

schen Befunde bei den einzelnen Mäusegruppen auf eine manifeste Ornithoseinfektion geschlossen werden musste. Es mag bedeutungsvoll erscheinen, daß nach der Infektion mit dem aus Tauben isolierten Stamm CH-17, bis zum Abbruch des Versuchs am 24. Tag post infect. mit zwanzig serologischen Untersuchungen nur in einem Falle und in niedriger Titerhöhe (1:10) komplementbindende Antikörper nachgewiesen wurden, obwohl dieser Stamm deutliche Mäusepathogenität zeigte. Die Zahl der drei untersuchten Seren in der Spanne vom neunzehnten bis zum vierundzwanzigsten Tag mag zu gering erscheinen, um daraus Folgerungen zu ziehen. Insgesamt handelte es sich jedoch dabei um Sammelseren von je vier Mäusen, also um insgesamt zwölf Seren, die keine oder in nicht nachweisbaren Mengen Antikörper gegen Ornithose enthielten. Die Frage, inwieweit die Bildung komplementbindender Antikörper in ornithoseinfizierten Mäusen abhängig ist von der Herkunft des Virusstammes, wurde jedoch in dieser Arbeit nicht näher berücksichtigt.

II. Institutsergebnisse.

Die Ergebnisse der im Institut durchgeführten diagnostischen Untersuchungen konnten unter denselben Gesichtspunkten geordnet werden wie die eigenen, da der Zeitpunkt der Serumgewinnung bekannt war:

1. vom 1.-6. Tag reagierten 2 untersuchte Seren negativ
2. vom 7.-12.Tag reagierten von 13 untersuchten Seren
4 positiv (10.Tag 2x 1:80; 1x 1:40; 1x 1:20)
3. vom 13.-18.Tag reagierte ein untersuchtes Serum positiv
(14.Tag 1:40)
4. vom 19.-24.Tag reagierten von 9 untersuchten Seren
6 positiv (20.Tag 1x 1:80; 1x 1:40; 2x 1:20;
2x 1:10)

Es ist auffällig, daß bei den Virusstämmen 924, 2385, 1171 und 2725 jeweils in der ersten Passage und bei Stamm 1171 bereits in der Anzüchtung komplexbindende Titer bis 1:80 schon am 10. Tag nachweisbar waren. Das frühzeitige Auftreten dieser Titer ist erklärbar aus den hierbei angewendeten Versuchsbedingungen. Die Organverreibung wurde jeweils in einer Verdünnung von 1:5 bis 1:10 intraabdominal appliziert bzw. weiterpassagiert. Dadurch war vermutlich die Infektionsdosis hoch, und es kam bereits in der ersten Passage zu einer starken Anreicherung des Virus in den Mäusen.

Die Seren der Mäuse, die mit den Stämmen 2431, 924, 2385 und 1487 infiziert worden waren, wurden am 20. Tag post infect. nicht untersucht. Bei den Stämmen 1171, 942 und 2725 wurden am 20. Tag im Serum Titer nachgewiesen. Bei Stamm 1727 wurde trotz Virusnachweis die serologische Diagnose einer Ornithoseinfektion nicht gestellt.

Einen Überblick über die Ergebnisse aus eigenen Versuchen und aus Institutsversuchen gibt Tabelle Nr. 7.

III. Betrachtung der Gesamtergebnisse.

Im Gegensatz zu den diagnostischen Versuchen mit wahrscheinlich hohen Virusmengen wurde bei den Infektionsversuchen mit Virusverdünnungen gearbeitet, die zwischen LD 50 $0,5 \times 10^{-2,2}$ und $10^{-4,21}$ lagen. Damit sollte erreicht werden, daß bei der überwiegenden Mehrzahl der Versuchstiere die Infektions zwar haftete, die Mäuse jedoch nicht starben, sondern Antikörper gegen das Ornithosevirus bildeten. Die mit dieser geringen Virusmenge infizierten Tiere

bildeten bei Stamm 1251 zwischen dem 1. und 6. Tag in 0%, zwischen dem 7. und 12. Tag in 3,57%, zwischen dem 13. und 18. Tag in 12,5% und zwischen dem 19. und 24. Tag in 53,85% der Fälle Antikörper. Bei Stamm Ch-17 kam es nicht zur Stimulation nachweisbarer Mengen an komplementbindenden Antikörpern. Der Höhepunkt war also zwischen dem 19. und 24. Tag erreicht.

Bei den diagnostischen Versuchen, bei denen vermutlich mit wesentlich höheren Viruskonzentrationen gearbeitet wurde, konnten komplementbindende Antikörper schon am 10. Tag post infect. nachgewiesen werden. Sieht man von den Seren der Mäuse ab, die mit den Virusstämmen 2431, 924, 2385 und 1487 infiziert wurden, und bei denen am 20. Tag serologische Untersuchungen fehlen, so tritt doch eine deutliche Erhöhung des positiven Anteils der untersuchten Seren zu diesem Zeitpunkt ein. Der Anteil der positiv reagierenden Seren vom 10. Tag betrug 28,57%. Am 20. Tag waren es 66,7%.

Zusammenfassend ergab sich folgendes Bild:

Von 87 auf komplementbindende Antikörper untersuchten Seren ornithoseinfizierter Mäusegruppen zeigten 20 eine Komplementbindung:

Zwischen dem 1. und 6. Tag wurden 15 Seren gewonnen, die alle negativ reagierten; vom 7. bis zum 12. Tage kamen 41 Seren zur Untersuchung: fünfmal wurden komplementbindende Antikörper nachgewiesen, d.h. in dieser Zeit wurde eine positive Komplementbindungsreaktion in 12,2% der Fälle erzielt. Der positive Anteil erhöhte sich bis zum 18. Tag post infect. auf 22,2% ; von neun Komplementbindungsreaktionen wurden zwei positiv. Aus der Zeit vom 19. - 24. Tage post infect. stammten 22 Seren, davon zeigten 13 eine Komplementbindung. Dies entspricht einem positiven Anteil von

59,1%. Diese Verhältnisse sind in Abbildung 1 dargestellt (siehe auch Tabelle Nr. 8)

In den ersten sechs Tagen, während der Antikörper noch nicht nachgewiesen werden können, ist der Virusnachweis in hohen Mäse positiv. Nach einem geringfügigen Anstieg zwischen dem 7. und 12. Tag sinkt der Anteil des positiven Virusnachweises in den folgenden Zeitabschnitten ab, während der der positiven Komplementbindungsreaktionen mit wachsender Entfernung vom Infektionstag steigt.

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß im Serum von Mäusen nach einer Infektion mit dem Ornithosevirus komplementbindende Antikörper nachgewiesen werden können. Der Zeitpunkt des Auftretens scheint weitgehend von der Infektionsdosis abzuhängen. In den Serien der Mäuse, die die Infektion bis zum 20. Tag überstanden hatten, war der größte Prozentsatz an komplementbindenden Antikörpern nachzuweisen.

Tabelle Nr. 8

Der Prozentsatz positiver und negativer Ergebnisse in vier Zeitspannen.

Zeitpunkt in Tagen	Gesamtzahl der KBR	Anzahl d. pos.KBR	Anzahl d. neg.KBR	Anzahl d. pos.KBR in v.H.	Anzahl d. neg.KBR in v.H.
1.-6.	15	0	15	0	100
7.-12.	41	5	36	12,2	87,8
13.-18.	9	2	7	22,2	77,8
19.-24.	22	13	9	59,1	40,9

% 100

50

25

0

ANTI-KORPER

VIRUS

40

30

20

10

0

0

0

0

0

0

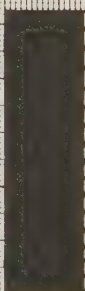
8-6

9-12

13-16

17-20

TAGE



E. Schlußfolgerungen.

Komplementbindende Antikörper sind im Serum ornithoseinfizierter weißer Mäuse vom 19. bis 24. Tag post infect, an in fast 60% der Fälle nachweisbar. Im Hinblick auf die Diagnostik kommt dieser Tatsache keine entscheidende Bedeutung zu. Dies geht aus den Versuchen mit dem Ornithosevirusstamm CH-17 hervor. Hier blieb bei positivem Virusnachweis die Komplementbindungsreaktion fast ausnahmslos negativ.

Die Komplementbindungsreaktion kann aber, wie die Versuche mit Stamm 1251 gezeigt haben, als wertvolle Ergänzung der mikroskopischen und pathologisch-anatomischen Prüfung der Versuchstiere auf Ornithoseinfektion eingesetzt werden.

Da der Virusnachweis zu einem früheren Zeitpunkt positiv wird, im allgemeinen zwischen dem 7. und 12. Tag post infect, empfiehlt es sich, wenigstens 6 Mäuse zu infizieren. Davon sollten drei am 10. Tag post infect. für den Virusnachweis und drei am 20. Tag post infect. für den Antikörpernachweis getötet werden.

Dabei wäre zu erwägen, ob in der diagnostischen Arbeit dieser vermehrte Aufwand sinnvoll ist, zumal eine Verkürzung des diagnostischen Verfahrens nicht erreicht wird. Der Einsatz der Komplementbindung käme stets für Fälle in Frage, in welchen der exakten Diagnose große Bedeutung zukommt.

F. Literaturverzeichnis.

1. Bedson, S.P. und Western, G.P.:
Brit. J. Exp. Path. 35, 299 (1930)
2. Bedson, S.P. und Gostling, J. O. T.:
Brit. J. Exp. Path. 11, 502 (1954)
3. Bedson, S. P.:
Brit. J. Exp. Path. 14, 162 (1933)
4. Bedson, S. P.:
Brit. J. Exp. Path. 14, 353 (1938)
5. Christensen P. M.:
Acta Path. Microbiol. Scand.; Suppl. 118,
110 (1957)
6. Cox, H. R.:
Ann. New York Acad. Sc. 48, 393 (1947)
7. Burnet, F. M. und Mountree P. M.:
Jour. Path. and Bact. 40, 471 (1953)
(zit. nach Fagan R. s. Nr. 10)
8. Burnet, Lazarus, Meyer K. F.: zit. nach Fagan R. s.
Nr. 10 (1939)
9. Eaton, Martin, und Beck :
Jour. Exp. Med. 75, 21 (1942)
10. Fagan R.:
in: Progress in Psittacosis. Research and Con-
troll, edit. by Beaudette F. R.: Rutgers Uni-
versity Press. New Brunswick, New Jersey,
(1958)
11. Francis und Gordon: zit. nach Christensen s. Nr. 5
(1945)
12. Fritzsche K., Lippelt, L. und Weyer, F.:
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 69, 61 (1956)
13. Gale, Pomeroy und Sanger:
J. Infect. Dis. 104, 95 (1959)
14. Fortner, J.:
Mh. Tierh. 5, 129 (1953)
15. Gönner, R.:
Zbl. f. Bakt. u. Hyg I. Orig. 147, 161 (1942)

16. Grabar, P. und Schoen, R.:
Bull. Soc. Chim. Biol. 23, 281 (1941)
17. Grabar, P. und Pomeroy, B. S.:
Amer. J. Publ. Hlth. 48, 1469 (1958)
18. Haagen; zit. nach Muhlis Yalpa s. Nr. 37
19. Henneberg, G.:
Zbl. f. Bakt. u. Hyg. 179, 29 I. Orig. (1960)
20. Hilleman, M. R.:
Jour. Infect. Dis. 76, 96 (1945)
21. Hornus, G. J. P.:
Ann. Inst. Past. 64, 97 (1940)
22. Kovac, W.:
Zbl. f. Bakt. u. Hyg. I. Orig. 181, 175 (1960)
23. Krumwiede, C., MacGrath, M. und Oldenbusch, G.:
Science 71, 262 (1930)
24. Krumwiede, C.:
Jour. Am. Med. Assn. 94, 955 (1930)
25. Levinthal, W.:
Klin. therap. Wschr. 9, 654 (1930)
26. Lippelt, H. und Brand, G.:
Deutsche Med. Wschr. 80, 110 (1955)
27. Meyer, K. F. und Eddie, B.:
Jour. Inf. Dis. 65, 225 (1933)
28. Meyer, K.F. und Eddie, B.:
Am. Publ. Hlth Assn. New York pp 1-45 (1948)
29. Meyer K.F. und Eddie, B.:
in: Progress in Psittacosis. Research and
Controll, edit. by Rutgers University Press,
New Brunswick, New York pp 52-86 (1958)
30. Meyer, K. F.:
Disease of Poultry, edit. by Biester, H. E.
und Schwartze, L. H. (1952)
31. Meyer, K.F.:
in: Hartmann, F. W., Horsfall, F. L., jr.,
Kidd, G. P.: The Blakistone Company Inc,
New York 295-323 (1954)
32. Meyer, K. F.:
J. Amer. Vet. Med. Assoc. 127, 136 (1955)

33. Monreal, G.:
Zbl. Vet. Med. 5, 273 (1958)
34. Monreal, G.:
Deutsche vet. Med. Gesellschaft 2. Fach-
tagung am 26.9. in Kloppenburg (1959)
35. Moritsch, H. und Kovac, W.:
Schweiz. Zschr. Path. u. Bakt. 19, 482 (1956)
36. Moritsch, H. und Kovac, W.:
Verh. d. Deutsch. Ges. f. Path. 42.Tag.
(1958)
37. Muhlis Yalpa: Inaugural-Dissertation aus dem Institut
für Zoonosenforschung, Frankfurt (1959)
38. Nigg, C. und Eaton, M. D.:
J. Exper. Med. 79, 497 (1944)
39. Nigg, C.:
Science 95, 49 (1942)
40. Pinkerton, H. und Moragues, V.:
J. Exp. Med. 75, 575 (1942)
41. Rivers, M. D. und Berry:
J. Exp. Med. 54, 91 (1931)
42. Rivers, M. D. und Berry:
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 29, 942
(1932)
43. Schoop, G. und Kauker, E.:
Mh. prakt. Tierh. 7, 120 (1956)
44. Smadel, J. B.:
J. Clin. Invest. 22 52 (1943)
45. Strauch, D. und Rott, R.:
Zschr. f. Hyg. 145, 5 (1958)
46. Stamp, McEwen, Watt und Nisbeth:
zit. nach Muhlis Yalpa s. Nr. 37
47. Wall, M.:
J. Immunol. 55, 353 (1947)
48. Weiss, D.:
J. Infect. Dis. 84, 125 (1949)
49. Weyer, F. und Lippelt, H.:
Zschr. f. Hyg. u. Infektskrh. 143, 223 (1956)

50. weyer, F.:
Schweiz. Z. Allg. Path. 18, 1105 (1955)
51. Weyer, F.:
Münchener Med. Wschr. 101, 851 (1959)
- 52.: Yanamura, H.J. und Meyer, K. F.:
J. Immunolog. 44, 195 (1942)

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

Über die Bildung komplementbindender
Antikörper gegen Ornithosevirus bei
experimentell infizierten Mäusen

im Institut für Zoonosenforschung in Frankfurt/Main unter Leitung von Herrn Professor Dr. G. Schoop mit Unterstützung durch Herrn Dr. G. Wachendörfer und Fräulein Dr. L. Krüger-Hansen ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Vorliegende Arbeit wurde (oder wird) in folgendem Publikationsorgan ----- veröffentlicht.

Frankfurt/Main, den 15. Juli 1964

Lore Knetsch

Lebenslauf.

Am 12. August 1938 wurde ich als zweites Kind von drei Geschwistern in Mittenwald in Schlesien als Tochter des Lehrers Willi Knetsch und seiner Ehefrau, Elisabeth Knetsch geb. Sedlacek, geboren. Im Januar 1945 mußten wir unsere Heimat, vor den anrückenden Russen flüchtend, verlassen. Wir blieben ein Jahr lang in Sachsen. 1946 übersiedelten wir nach westdeutschland. Seit 1961 wohnen wir in Bensheim. Mein Vater ist seit 1944 vermißt.

Nach vier Volksschuljahren besuchte ich ab 1949 die Goetheschule, Gymnasium für Mädchen, in Bensheim. Im März 1958 bestand ich hier die Reifeprüfung. Ich studierte Medizin vom Sommersemester 1958 bis zum Sommersemester 1963 in Frankfurt.

Im April 1959 bestand ich das Vorphysikum, im Oktober 1960 das Physikum. Im Februar 1964 beendete ich mein Studium mit dem Staatsexamen.

Bensheim, den 15. Juli 1964

Lore Knetsch

Meine akademischen Lehrer waren die Professoren

W. Artelt, M. Czerny, J. Frey, H. Frick, R. Geißendörfer, J. Gerchow, E. Güntz, E. Heinz, F. Herrmann, K. Herzberg, F. Hoff, P. Holtz, H. Jant, O. Käser, R. Mittermaier, R. Ortmann, B. Rajewsky, W. Rotter, B. de Rudder, P. Royen G. Schoop, W. Siede, D. Stark, R. Thiel, K. Wezler, J. Zutt.

Herrn Professor Dr. G. Schoop danke ich
herzlich für die Überlassung des Themas.
Außerdem gilt mein Dank den Angehörigen
des Instituts, besonders Herrn Dr. G.
Wachendörfer und Fräulein Dr. L. Krüger-
Hansen.

